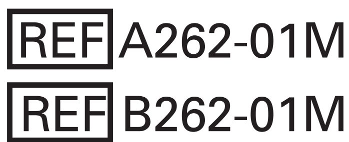


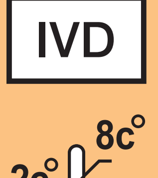


SeroMP™ IgM



Trousse pour la détection semi-quantitative par dosage immuno-enzymatique (ELISA) des anticorps IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* dans le sérum humain

IVD



Pour usage professionnel uniquement



SeroMP™ IgM

Indications d'utilisation

La trousse SeroMP™-IgM permet la détermination semi-quantitative in vitro des anticorps IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae* dans le sérum humain, par dosage immuno-enzymatique (ELISA).
La trousse Savyon® SeroMP™ IgM permet le diagnostic précoce d'une infection en cours dans un seul échantillon sérique, par détermination des anticorps IgM.

Pour Diagnostic ***In Vitro***.

Introduction

Mycoplasma pneumoniae est une cause fréquente de pneumonie, qui se caractérise souvent par une apparition progressive de maux de tête, fièvre, malaise, et plus typiquement une toux sèche. *M.pneumoniae* est commun à tous les groupes d'âge, cependant il est plus fréquent dans les vingt premières années de vie et il est rare chez des enfants de moins de quatre ans. Il est reconnu comme étant responsable de plus de 30% des cas de pneumonie (1). On peut retrouver *M.pneumoniae* à l'origine de maladies non respiratoires telles que des manifestations neuroméningées, pancréatiques, ORL et du syndrome neurologique aigu au niveau du tronc cérébral (2).

Etant donné sa grande fréquence, on peut incriminer *M.pneumoniae* en cas de pneumonie, mais les symptômes étant les mêmes pour divers agents pathogènes, d'autres tests sérologiques sont nécessaires au diagnostic (3).
La technique ELISA est sensible, spécifique et permet une différenciation des anticorps spécifiques IgG, IgA et IgM (4).
La concentration des IgM spécifiques dirigées contre les antigènes du *M.pneumoniae* augmente très tôt après le début de la maladie, atteint son maximum en 1 à 4 semaines, puis diminue jusqu'à des valeurs indécelables, en quelques mois (5).
En raison de l'apparition précoce et de la durée de vie relativement courte des anticorps IgM, leur détection, dans un seul échantillon sérique, permet le diagnostic d'une infection aiguë. Les jeunes patients présentent des titres en IgM supérieurs à ceux des adultes (6). Le niveau des IgG augmente plus lentement que celui des IgM, mais reste élevé plus longtemps, par conséquent, une augmentation significative des IgG entre deux échantillons consécutifs prélevés avec un intervalle d'au moins 2 semaines indique une infection en cours ou une ré-infection, même en l'absence d'IgM. Les IgA sont présentes à des concentrations plus élevées chez les patients âgés (5) et sont plus intéressantes que les IgM pour diagnostiquer une infection en cours chez l'adulte (6).

Savyon® Diagnostics Ltd. a développé des trousses ELISA pour le dosage semi-quantitatif des IgG, IgA et IgM permettant le suivi de ces différents anticorps dans le sérum humain. L'antigène utilisé dans les trousses SeroMP™ correspond à une préparation de membrane de *M. pneumoniae* contenant la protéine de membrane P1,

très immunogène (7,8,9,10,11).
Les trousses SeroMP™ permettent la détection précoce et précise des anticorps IgG, IgA, IgM anti-*Mycoplasma pneumoniae*.

Principe du dosage

- Les plaques de microtitration SeroMP™ sont fournies revêtues de fractions purifiées de protéine membranaire du *Mycoplasma pneumoniae*.
- Le sérum à doser est dilué et mis à incuber dans les puits de la microplaque. Lors de cette étape les anticorps de *M.pneumoniae* vont se fixer aux antigènes des puits.
- Les anticorps non fixés sont éliminés par lavage.
- Des immunoglobulines anti-IgM humaines conjuguées à la peroxydase du raifort (HRP) sont ajoutées. Lors de cette étape le conjugué se lie au complexe antigène-anticorps fixé au puits.
- Le conjugué non lié est éliminé par lavage.
- Après ajout du TMB-Substrat, celui-ci est hydrolysé par la peroxydase, formant ainsi, par réduction du substrat, une réaction colorée bleue.
- Après ajout de la solution d’arrêt, la coloration bleue vire au jaune et peut ensuite être lue au spectrophotomètre à 450/620nm.
- L’absorbance est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques ayant réagi avec les antigènes fixés sur les parois des puits.

Procédure de dosage

Puits revêtus d'antigènes *M.pneumoniae*
↓
Ajouter 50µl de contrôle négatif, 50µl de contrôle positif, 50µl de chaque étalon :
(P10, P50, P75) et échantillons dilués
↓
Couvrir et incuber 1h à 37°C à 100% d'humidité
↓
Laver 3 fois avec le tampon de lavage
↓
Ajouter 50µl de conjugué-HRP dilué au 1/300
↓
Couvrir et incuber 1 h à 37°C à 100% d'humidité
↓
Laver 3 fois avec le tampon de lavage
↓
Ajouter 100µl de TMB-substrat
↓
Couvrir et incuber 15min à température ambiante
↓
Ajouter 100µl de solution d'arrêt
↓
Lire l'absorbance à 450/620nm
↓
Calculer et interpréter les résultats

Contenu de la trousse

Trousse pour 96 déterminations — Réf. A262-01M

1. **Microplaque revêtue d'antigène *M.pneumoniae*:** 96 puits sécables (8x12) revêtus d'antigènes *M.pneumoniae*, contenus dans un sachet d'aluminium contenant un déshydratant.
   1 Plaque
2. **Tampon de lavage concentré (20X):** Un tampon PBS - Tween.
   1 flacon, 100ml
3. **Diluant du sérum IgM (rouge):** Une solution tampon anti-IgG humaine, prête à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin comme conservateur.
   1 flacon, 60ml
4. **Diluant du conjugué (vert):** Une solution tampon prête à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin comme conservateur.
   1 flacon, 40ml
5. **Contrôle Positif:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin et moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
   1 flacon, 2,0ml

6. **Contrôle Négatif:** Sérum humain négatif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin et moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
1 flacon, 2,0ml
7. **Etalon P10:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient 10 UA/ml d'IgM (unités arbitraires) Contient moins de 0,1% d'azide de sodium et moins de 0,05% de Proclin comme conservateur
1 flacon, 2,0ml
8. **Etalon P50:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient 50 UA/ml d'IgM (unités arbitraires) Contient moins de 0,1% d'azide de sodium et moins de 0,05% de Proclin comme conservateurs
1 flacon, 2,0ml
9. **Etalon P75:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient 75 UA/ml IgM (unités arbitraires) Contient moins de 0,1% d'azide de sodium et moins de 0,05% de Proclin comme conservateurs
1 flacon, 2,0ml
10. **Conjugué-HRP concentré (300X):** Conjugué d'anti-IgM humaines (spécifiques de la chaîne µ) conjugué à la peroxydase du raifort. Contient moins de 0,05% de Proclin comme conservateur.
1 flacon, 0,2ml
11. **TMB-Substrat:** Solution prête à l'emploi. Contient 3, 3', 5, 5' - tétraméthylbenzidine comme chromogène et du peroxyde comme substrat.
1 flacon, 14ml
12. **Solution d'arrêt:** Solution prête à l'emploi. Contient 1M H_2SO_4.
1 flacon, 15ml
12. **Couvercle pour plaque:** **1 unité**
13. **Manuel d'utilisation:** **1**

Trousse pour 192 déterminations Réf. B262-01M

1. **Microplaque revêtue d'antigène *M.pneumoniae*:** 96 puits sécables (8x12) revêtus d'antigènes *M.pneumoniae*, contenus dans un sachet d'aluminium contenant un déshydratant.
2 Plaques
2. **Tampon de lavage concentré (20X):** Un tampon PBS - Tween.
2 flacons, 100ml chaque
3. **Diluant du sérum IgM (rouge):** Une solution tampon anti-IgG humaine, prête à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin comme conservateur.
1 flacon, 60ml
4. **Diluant du conjugué (vert):** Une solution tampon prête à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin comme conservateur.
1 flacon, 80ml
5. **Contrôle Positif:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin et moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
1 flacon, 2,0ml

6. **Contrôle Négatif:** Sérum humain négatif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient moins de 0,05% de Proclin et moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
1 flacon, 2,0ml
7. **Etalon P10:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient 10 UA/ml d'IgM (unités arbitraires) Contient moins de 0,1% d'azide de sodium et moins de 0,05% de Proclin comme conservateur
1 flacon, 2,0ml
8. **Etalon P50:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient 50 UA/ml d'IgM (unités arbitraires) Contient moins de 0,1% d'azide de sodium et moins de 0,05% de Proclin comme conservateurs
1 flacon, 2,0ml
9. **Etalon P75:** Sérum humain positif pour IgM anti-*M.pneumoniae* prêt à l'emploi. Contient 75 UA/ml IgM (unités arbitraires) Contient moins de 0,1% d'azide de sodium et moins de 0,05% de Proclin comme conservateurs
1 flacon, 2,0ml
10. **Conjugué-HRP concentré (300X):** Conjugué d'anti-IgM humaines (spécifiques de la chaîne μ) conjugué à la peroxydase du raifort. Contient moins de 0,05% de Proclin comme conservateur.
1 flacon, 0,2ml
11. **TMB-Substrat:** Solution prête à l'emploi. Contient 3, 3', 5, 5' - tétraméthylbenzidine comme chromogène et du peroxyde comme substrat.
1 flacon, 24ml
12. **Solution d'arrêt:** Solution prête à l'emploi. Contient 1M H_2SO_4.
1 flacon, 30ml
13. **Couvercle pour plaque:** **2 unités**
14. **Manuel d'utilisation:** **1**

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Tubes de dosage propres pour la dilution des sérums des patients.
2. Flacon plastique jetable pour la dilution du conjugué HRP concentré.
3. Micropipettes graduées, pipettes multicanaux (5-50, 50-200 et 200-1000µl) et embouts jetables.
4. Flacon d'un litre.
5. Eprouvette de 50ml.
6. Bouteille de lavage.
7. Papier absorbant.
8. Agitateur Vortex.
9. Bain marie à 37°C avec couvercle.
10. Lecteur de plaque ELISA avec filtres à 450 et 620nm.
11. Eau distillée ou bidistillée.

Avertissements et Précautions

Pour Diagnostic *In Vitro*

1. Ce kit contient des sérums humains qui ont été testés par des techniques approuvées par la FDA et CE –Ils ont été trouvés dépourvus d'antigène HBs,d'ac VIH 1 et 2, et anti HCV ,comme aucune technique ne peux garantir l'innocuité absolue des matériels testés ,ceux-ci doivent donc être manipulés comme potentiellement infectieux- selon les recommandations publiées dans le manuel "Sécurité biologique dans les laboratoires de microbiologie et de biologie médicale, 1988" de CDC/NIH (National Institute of Health - Institut National de la Santé américain).
2. La solution de TMB-Substrat est irritante pour la peau et les muqueuses. Eviter le contact direct.
3. Tous les composants de cette trousse ont été étalonnés et testés par lot. Ne pas mélanger des composants provenant de lots différents.
4. L'acide sulfurique dilué (H_2SO_4 1M) est irritant pour les yeux et la peau. En cas de contact avec les yeux, rincer à grande eau immédiatement et consulter un médecin.

Conservation et durée de vie des réactifs

1. Tous les réactifs fournis doivent être conservés à 2-8°C. Les flacons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur la trousse. L'exposition des composants bouchés ou scellés à température ambiante pendant quelques heures n'affectera pas les réactifs. **NE PAS CONGELER !**
2. Une fois ouverte, la durée de vie de la trousse est de 90 jours.
3. Les barrettes non utilisées doivent être rescellées dans le sachet en aluminium avec les déshydratants, en enroulant le côté ouvert et en fermant fortement avec la bande sur toute la longueur.
4. Il est courant que des cristaux se forment dans le tampon de lavage (concentré 20X) pendant sa conservation au froid. Redissoudre ces cristaux en chauffant le tampon à 37°C avant de le diluer. Une fois dilué, le tampon peut être conservé à 2-8°C pendant 3 semaines.

Prélèvement du sérum

Préparer le sérum à partir d'échantillons prélevés aseptiquement selon les méthodes classiques. Ne pas utiliser du sérum inactivé par la chaleur. L'utilisation de sérum contaminé, trouble ou lipidique est fortement déconseillé. Des particules et des précipités dans le sérum peuvent entraîner des résultats erronés. Clarifier ces échantillons par centrifugation ou filtration avant le dosage.

Conservation

Les échantillons doivent être conservés à 2-8°C et dosés dans les 7 jours (l'addition d'azide de sodium à 0,1% est fortement recommandée). Pour une conservation plus longue, aliquoter les échantillons et les conserver à -20°C. Eviter les décongélations et congélations répétées.

Procédure de dosage - Manuelle

Procédure sur automate disponible sur demande.

A. Préparation des réactifs

1. Porter tous les composants et les échantillons cliniques à température ambiante. Bien mélanger les étalons (P10, P50, P75), le contrôle négatif, contrôle positif et les échantillons avant utilisation.
2. Déterminer le nombre total d'échantillons à tester. En plus de ces échantillons, prévoir pour chaque dosage : un puits pour le blanc, un puits pour le contrôle négatif, contrôle positif et trois puits pour les 3 étalons (P10, P50, P75).
3. Retirer la microplaque de son sachet d'aluminium en coupant l'extrémité de l'emballage. Placer le nombre de puits nécessaires pour le dosage sur le support (selon le nombre d'échantillons à tester).
4. Diluer le tampon concentré au 1/20 avec de l'eau distillée : par exemple pour 1 litre de tampon de lavage, ajouter 50ml de tampon de lavage concentré à 950ml d'eau distillée ou bidistillée.

B. Incubation des sérums et des contrôles

5. Diluer chaque sérum de patient au 1/105 avec le diluant pour sérum comme suit : Ajouter 10µl de sérum de patient à 200µl de diluant pour sérum (1/21), et diluer ensuite en ajoutant 25µl de dilution au 1/21 à 100µl de diluant du sérum.
   Note: Le diluant pour sérum contient des anticorps anti-IgG humains pour supprimer les IgG du sérum.
6. Distribuer 50µl de blanc (diluant du sérum), de contrôle négatif, contrôle positif, des 3 étalons (P10, P50, P75) et d'échantillon sérique dilué au 1/105 dans les différents puits de la barrette.
7. Couvrir les barrettes avec un couvercle et incuber 1 heure à 37°C en chambre humide.
8. Eliminer le liquide présent dans les puits.
9. **Etapes de lavage:** remplir,à ras-bord, chaque puit avec du liquide de lavage (300-350µl) puis éliminer ce liquide. Répéter encore deux fois, pour un total de trois étapes de lavage.
10. Sécher les puits en les tapotant délicatement sur du papier absorbant.

C. Incubation avec le conjugué

11. Afin d'obtenir la solution de travail, le conjugué (anti-IgM humaine) concentré-HRP doit être dilué. Diluer le conjugué-HRP au 1/300 avec le diluant pour conjugué. Par exemple pour 2 barrettes, préparer un minimum de 3ml de conjugué de la manière suivante: 10µl de conjugué HRP anti-IgM concentré mélangé à 3ml de diluant du conjugué.

12. Distribuer 50µl de conjugué dilué dans chaque puits.
13. Recouvrir les barrettes avec un couvercle et incuber 1 h à 37°C en chambre humide.
14. Eliminer le liquide et laver comme dans les étapes 9 et 10.

D. Incubation avec le TMB - Substrat

15. Distribuer 100µl de TMB-substrat dans chaque puits, couvrir les barrettes avec un couvercle et incuber **15 minutes** à température ambiante.
16. Arrêter la réaction par ajout de 100µl de solution d'arrêt (H_2SO_4 1M) dans chaque puits.

E. Détermination des résultats

17. Déterminer l'absorbance à 450/620nm et enregistrer les résultats. La lecture doit se faire dans les 30 minutes maximum après l'arrêt de la réaction colorée.

Note: *Toute bulle d'air doit être éliminée avant la lecture. Le fond de la plaque ELISA doit être soigneusement essuyé.*

Validation du dosage

Afin de valider le dosage, les critères suivants doivent être vérifiés et validés. Si ces critères ne sont pas remplis, le dosage est invalidé et doit être refait.

1. $D.O._{P75}$ > **0,9**
2. Rapport : $D.O._{P10}$ / $D.O._{CN}$ > **1,5**
3. Rapport : $D.O._{P50}$ / $D.O._{CN}$ > **4**
4. Rapport : $D.O._{P75}$ / $D.O._{CN}$ > **5.5**
5. Contrôle Positif devra être ≥ **40 UA/ml**

Calcul des résultats

Afin de standardiser les résultats obtenus dans les différents tests il faut calculer la concentration en UA/ml des échantillons de la façon suivante:

Méthode manuelle, avec du papier millimétré:

1. Reporter les valeurs d'absorbance (D.O.) des 3 étalons (P10, P50 et P75) en ordonnées en fonction de leur concentration (UA/ml) en abscisses.
2. Tracer, à partir des points, la courbe la mieux adaptée.
3. A partir de la courbe d'étalonnage, interpoler la valeur des concentrations (en UA/ml) des échantillons correspondant à chaque absorbance mesurée (exemple 1).

Exemple 1: Interpolation des résultats:

Lire la valeur d'absorbance des échantillons sur l'axe des ordonnées (Y) et tracer une ligne horizontale jusqu'à la courbe d'étalonnage.
Au point d'intersection de la courbe d'étalonnage, tracer une ligne verticale jusqu'à l'axe des abscisses (X).
Lire la concentration de l'échantillon en UA/ml.

Calibrators	IgM BU/ml	OD 450/620 nm
P10	10	0.570
P50	50	1.194
P75	75	1.600
Sample	x1=66	y1=1.452

Sero MP IgM Calibration

$y = 0.0158x + 0.4093$

$R^2 = 0.9999$

OD 450/620 nm

2.0
1.5
1.0
0.5
0.0

y1
x1
0.570
1.194
1.600

0 20 40 60 80

IgM BU/ml

Interprétation des résultats

IgM UA/ml	Résultat	Interprétation diagnostique
< 10 UA/ml	**Négatif** Pas d'anticorps IgM détectes	**Pas d'infection à *M. pneumoniae***
≥ 10 UA/ml ≤ 20 UA/ml	**Douteux**	**Doser un deuxième échantillon, prélevé 2 à 3 semaines après, en parallèle avec le premier. Si le second échantillon est douteux, le résultat doit être considéré négatif**
> 20 UA/ml	**Positif** Concentration d'anticorps IgM significative	**Infection à *M. pneumoniae* en cours**

Afin d’obtenir un profil d’anticorps complet, les IgA et les IgG devraient également être dosés

Interprétation des résultats à partir de la détection combinée des anticorps IgG, IgM et IgA.

Niveau d’anticorps *M. pneumoniae*			
IgG	**IgM**	**IgA**	
Négatif	**Négatif**	Négatif	**Pas d’infection à *M.pneumoniae***
Négatif ou Positif	**Positif**	Négatif ou Positif	**Infection à *M.pneumoniae* en cours**
Positif	**Négatif**	Négatif	**Infection à *M.pneumoniae* ancienne**
Négatif ou Positif	**Négatif**	Positif	**Infection à *M.pneumoniae* en cours ou réinfections**

Réactions croisées

Des patients hospitalisés, infectés par des agents pathogènes du tractus respiratoire : Chlamydia pneumoniae, Influenza A., Influenza B., Parainfluenza 1, 2 et 3 ainsi que par Adenovirus et EBV diagnostiqués par des tests sérologiques commercialisés, ont été aussi étudiés avec la trousse SeroMP. La plupart des sérums ont été trouvés négatifs, il n’a pas été détecté de réactions croisées significatives.

Limites du dosage

1. Le diagnostic final ne doit pas reposer sur le seul résultat sérologique. Toutes les données cliniques et de laboratoire doivent être prises en considération.
2. Les échantillons dosés trop tôt pendant la primo-infection ne contiennent pas toujours d’anticorps décelables. Si une infection à *M. pneumoniae* est suspectée, un second échantillon doit être prélevé 2 à 4 semaines plus tard et dosé en parallèle avec l’échantillon d’origine.
3. Substances interférentes: Il n’est pas conseillé d’utiliser du sérum lipémique, trouble ou contaminé. Du sérum contenant du précipité ou des particules en suspension peut conduire à des résultats erronés. Ces échantillons devraient être clarifies par centrifugation ou par filtration avant le dosage.

Performances du dosage

Sensibilité et Spécificité

La sensibilité et la spécificité du SeroMP IgM ont été calculées sur 22 sérums provenant de patients atteints de pneumonie et 21 sérums de donneurs de sang sains, dosés avec deux trousses commercialisées (Résultats Consensus).

		Résultats Consensus	
		Positif	Négatif
SeroMP™ IgM	Positif	21	0
	Négatif	1	21

Sensibilité: 21/22 x 100 = 95%
Spécificité: 21/21 x 100 = 100%
Accord total: 42/43 x 100 = 98%

Précision

Répétabilité (précision Intra-essai):

Echantillon	No. de détermination	Valeur moyenne	CV%
Positif	10	1,341	3,4%
Négatif	10	0,243	4,3%

Reproductibilité (précision inter-essais):

Echantillon	No. de détermination	Valeur moyenne	CV%
Positif	10	1,302	4,4%
Négatif	10	0,330	8,6%

Bibliography

1. Liberman D., Schlaffer F., Boldur I., Liberman D., Horowitz S., Friedman, M.G., Leioninen M., Horowitz O., Manor E. and Porath A. (1996) Multiple pathogens in adult patients admitted with Community - aquired pneumonia,a one year prospective study of 346 consective patients Thoras 1996 51: 179-184.

2. Okada T., Kato I., Miho I., Minami S., Kinoshita H., Akao I., Kemmochi M., Miyabe S.and Takeyama I (1996) Acute Sensorimeural Hearing Loss Cause by *M. Pneumoniae* Acute Otolaryngol (Stockh) 1996 522: 22-25

3. Lieberman, D., Shvartzman, P., Lieberman, D., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Hoffman, S., Mosckovitz, R., Ohana, B., Leinonen, M., Luffy, D. and Boldur I. (1998) Etiology of Respiratory Tract Infection in Adults in a General Practice Setting. Eur J Clin Bicrobiol Infect Dis 17: 685-689.

4. Raisanen S.M. Suni J.I. and Leinikki P.O.: (1980) "Serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections by enzyme immunoassay" : J.Clin. Pathol. 33, 836-840.

5. Seggav J.S., Sedmark G.V. and Krup V., (1996) Isotype-specific antibody responses to acute *M. pneumoniae* infection Ann Allergy Asthma Immuno. 77: 67-73.

6. Samra Z., and Gadba R.,(1993) "Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection by specific IgM antibodies using a new capture-enzyme-immunoassay; Eur. J. Epidermol. 9: 97-99.

7. Lieberman, D., Lieberman, D., Printz, S., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Ohana, B., Friedman, M.G., Dvoskin, B., Leinonen, M. and Boldur, I. (2003) Atypical Pathogen Infection in Adults with Acute Exacerbation of Bronchial Asthma. Am J Respir Crit Care Med. 167: 406-410.

8. Lieberman, D., Leibrman, D., Ben-Yaakov, M., Shmarkov, O., Gelfer, Y., Varshavsky, R., Ohana, B., Lazarovich, Z. and Boldur, I. (2002) Serological evidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in acute exacerbation of COPD. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 44: 1-6.

9. Lieberman, D., Leibrman, D., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Ohana, B., Friedman, M.G., Dvoskin, B., Leinonen, M. and Boldur, I. (2003) Age and Ageing 32: 95-101.

10. Lieberman, D., Leibrman, D., Koronsky, I., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Friedman, M.G., Dvoskin, B., Leinonen, M. Ohana, B., and Boldur, I. (2002). A comparative study of the etiology of adult upper and lower respiratory tract infections in the community. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 42: 21-28.

11. Lim, T.H., Muhlestein, J.B., Carlquish, J.F., Ohana, B., Lipson, M., Horne, B.D., Anderson, J., L. (2002). *Mycoplasma Pneumoniae* High IgA Titer but Not IgG Predicts Increased Hazard of Death or Myocardial Infarction Among Patients with Angiographically Defined Coronary Artery Disease. Abstract presented at the 51st Annual Scientific Session of the American College of Cardiology, March 17-20, 2002. Atlanta, Georgia.

M262-01F 04-10/13



SAVYON DIAGNOSTICS Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 77610, Israel
Tel: 972.8.8562920 Fax: 972.8.8523176
e-mail: support@savyondiagnostics.com



Obelis s.a. (European Authorized Representative)
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Brussels, Belgium
Tel.: +32.2.732.59.54 Fax.: +32.2.732.60.03
e-mail: mail@obelis.net